

Title	Survival-Promoting Mechanism via PI3-Kinase in Cerebellar Granule Neurons
Author(s)	下家, 浩二
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3143764">https://doi.org/10.11501/3143764</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	下家浩二
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 13650 号
学位授与年月日	平成10年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生物化学専攻
学位論文名	Survival-Promoting Mechanism via PI3-Kinase in Cerebellar Granule Neurons. (PI3-キナーゼを介する小脳顆粒細胞死抑制シグナルの解析)
論文審査委員	(主査) 教授 畠中 寛  (副査) 教授 小倉 明彦 教授 秋山 徹

#### 論文内容の要旨

脳神経細胞は、発生の初期過程で過剰に産生されそれらの約半数は死(アポトーシス)に至る。この死は、シナプス形成期において、神経細胞が標的細胞と正しいシナプス形成が出来なかった場合に、標的組織から放出される神経栄養因子を受け取れないために引き起こされると考えられている。この細胞死はアポトーシスの形態をとり、神経機能の発現に必須な正しい神経回路成形のための手段として、生理学的に意義のあるものと考えられる。しかし、このような正常に機能している神経細胞もある種の外来性の刺激によって、アポトーシス様の死の形態をとる。培養小脳顆粒細胞を用いると、脳由来神経栄養因子(BDNF)や高カリウム( $\text{HK}^+$ )脱分極刺激が、神経細胞のアポトーシスを有意に抑制することを観察できる。私は、この抑制作用の細胞内メカニズムについて解析を行った。

まず、PI3-Kの特異的阻害剤として知られるPI3-Kの特異的阻害剤である、LY294002とwortmanninを用いてその効果を調べた。結果、両阻害剤添加により、BDNFや $\text{HK}^+$ の生存効果が減少し、小脳顆粒細胞において細胞死抑制効果がPI3-Kを介していることが示唆された。これらの阻害剤添加により誘導される細胞死は、RNAまた蛋白質合成を要求し、さらに、核内のDNAに断片化が見られたことからアポトーシスであることを確認した。また、BDNFや $\text{HK}^+$ による生存効果はMAPKKやPLC- $\gamma$ の特異的阻害剤である、PD98059やU-73122で影響がなかったことから、小脳顆粒細胞の $\text{LK}^+$ で誘導されたアポトーシスの抑制には、PI3-K経路のみが必須であることが示された。

PI3-Kを介して、Akt/PKBが活性化することが知られているが、次に、PI3-Kの活性化によって、この分子を介して小脳顆粒細胞の生存維持のシグナルが伝達されている可能性について検討した。その結果、BDNFや $\text{HK}^+$ と比較すると、 $\text{LK}^+$ またはPI3-Kの阻害剤の存在下では、Akt/PKBの活性が低下していた。また、PI3-Kの産物脂質類縁体、PIP、PIP<sub>2</sub>、PIP<sub>3</sub>の添加で、PIP<sub>2</sub>の場合、約30%の生存率の上昇が見られた。また、この脂質により、Aktの活性化も確認された。この結果は、AktがPI3-Kの下流で小脳顆粒細胞の細胞死抑制作用を示していることを示唆している。さらに、PI3-Kの阻害剤、LY294002の添加により、細胞死誘導のシグナル分子としての作用を持つc-Junの発現上昇やc-Junをリン酸化する酵素であるJNKの活性上昇が見られた。この結果から、小脳顆粒細胞の細胞死抑制はPI3-KおよびAktを介し、細胞死誘導シグナル伝達分子であるJNK、c-Junの機能を抑制することで発揮されていることが明らかになった。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は、中枢神経系におけるシナプス形成期にみられる小脳顆粒細胞のニューロトロフィンによるアポトーシス防御の細胞内機構について研究したものである。その結果、ニューロトロフィンの一つ、脳由来神経栄養因子によるフォスファチジルイノシトール3-キナーゼを介する細胞死抑制シグナル経路を明らかにしており、博士（理学）の学位論文として十分価値のあるものと認める。